

# 厌氧氨氧化菌混培物生长及代谢动力学研究<sup>1</sup>

郑 平\* 胡宝兰

(浙江大学环境工程系 杭州 310029)

**摘 要** 研究了厌氧氨氧化菌混培物的动力学特性。测得细胞产率系数  $1.573\text{mgVS}(\text{mmol NH}_4^+)^{-1}$  ;细胞衰减常数  $0.052\text{mgVS}(\text{g}\cdot\text{VS}\cdot\text{d})^{-1}$ 。厌氧氨氧化菌混培物的最大氨氧化速率  $1.320\sim 2.761\text{mmol}(\text{gVS}\cdot\text{d})^{-1}$  ,最大亚硝酸盐转化(反硝化)速率  $14.497\text{mmol}(\text{gVS}\cdot\text{d})^{-1}$ 。厌氧氨氧化菌混培物利用氨的  $K_m$  值  $1.801\sim 4.215\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ,利用亚硝酸盐的  $K_m$  值  $0.468\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。氨自身的抑制常数  $38.018\sim 98.465\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ,实际最大氨氧化速率的氨浓度  $16.656\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。亚硝酸盐对厌氧氨氧化的抑制常数  $5.401\sim 11.995\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。厌氧氨氧化的最适 pH7.605。厌氧氨氧化的最适温度  $30^\circ\text{C}$ 。  $V_{max}$ 、 $K_m$ 、 $K_{ia}$  和  $K_{in}$  的活化能依次为  $37.316$ 、 $30.239$ 、 $33.695$  和  $30.473\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

**关键词** 厌氧氨氧化,动力学,硝化,反硝化

中图分类号 Q819 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2001)02-0193-06

厌氧氨氧化( $5\text{NH}_4^+ + 3\text{NO}_3^- \rightarrow 4\text{N}_2 + 9\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ ;  $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ )是 90 年代中期发现的一个新的生物反应<sup>[1]</sup>,利用厌氧氨氧化可同时取得生物硝化和反硝化的效果<sup>[2]</sup>,因此在环境工程上具有较高的利用价值<sup>[3]</sup>。研究并掌握厌氧氨氧化的动力学特性,将有助于该生物反应的开发。

## 1 材料与方 法

### 1.1 厌氧氨氧化菌混培物及其培养方法

**1.1.1 分批培养** 分批培养所用的厌氧氨氧化菌接种物取自生物脱氮流化床反应器。将厌氧氨氧化菌混培物用于分批培养试验前,先用除氧的  $\text{KHCO}_3$  缓冲液(pH7.1)冲洗 3 次,以去除残留基质。

在测定生物量对厌氧氨氧化的影响时,于一系列血清瓶(117mL)中加入不同数量的厌氧氨氧化菌混培物,尔后加入培养液至最终体积为 50mL,氨 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 和亚硝酸盐( $\text{NaNO}_2$ )的最终浓度分别为 5 和  $2\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在其它动力学测定时,血清瓶中加入 2mL 厌氧氨氧化菌混培物和 48mL 培养液,并根据要求,将氨和亚硝酸盐配制成相应的浓度。血清瓶用丁基橡胶塞盖紧,再加铝盖加固。然后,用

真空泵抽空血清瓶上部的气体,并以 95% Ar 和 5%  $\text{CO}_2$  混合气体置换。重复该抽真空和混合气体置换操作 5 次,以确保血清瓶内无氧。血清瓶静止培养于  $30^\circ\text{C}$  的黑暗环境中。间隔 6h 取样测定,所有测试设 3 个重复。

培养基的组成为(g/L): $\text{MgSO}_4$  0.04 ; $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 ;微量元素溶液 2mL。氨和亚硝酸盐的最终浓度按要求调整。

微量元素溶液组成为(g/L):EDTA 50 ; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.2 ; $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1.61 ; $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  5.06 ; $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1.57 ; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1.10 ; $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  5.54 ; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  4.99 ; $\text{H}_2\text{O}$  1000mL。

pH 试验所用的缓冲液为(mmol/L): $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$  缓冲液 10 ;Tris-HCl 缓冲液 10 ; $\text{NaHCO}_3\text{-K}_2\text{CO}_3$  缓冲液 10 ;甘氨酸缓冲液 10。

**1.1.2 连续培养** 连续培养所用的厌氧氨氧化流化床反应器如图 1 所示。采用玻璃管制成,总容积 2.50L 其中液相容积 2.25L,气相容积 0.25L。

反应器外侧设有水层夹套,通过循环水维持  $30^\circ\text{C}$  的反应温度。整个装置用黑纸包裹,以防光对厌氧氨氧化菌混培物的损害。为了使反应器保持缺

收稿日期 2000-07-26 修回日期 2000-12-14。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(30070017)。

\* 联系作者。 Tel 86-571-6971709 Fax 86-571-6971411 E-mail bjb@zhujiu.ac.cn 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

氧状态,气室用 95% Ar 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体置换,并通过水封防止氧气进入。

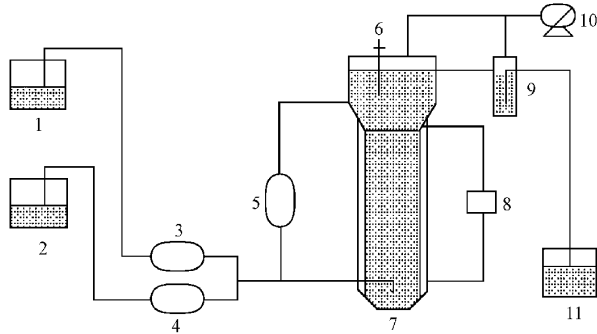


图 1 厌氧氨氧化流化床反应器装置

Fig.1 The biological fluidized bed system and its flow diagram

- 1. Wastewater 2. Nitrite solution 3 4 5. Pump 6. Sampling port ;
- 7. Anaerobic ammonia oxidation fluidized bed reactor 8. Water bath ;
- 9. Water seal ;10. Gas-meter ;11. Effluent

培养基与分批培养相同。同作进样前,先用 95% Ar 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体置换(20min),去除其中的溶解氧。进样期间,连续通入该混合气体,以免氧气重新溶入。pH 用 1.8 (mol·L<sup>-1</sup>)KHCO<sub>3</sub> 调节至 7.8。

### 1.2 分析测定方法

- 1) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 水杨酸-次氯酸盐光度法<sup>[4]</sup>
- 2) NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N N-(1-萘基)-乙二胺光度法<sup>[4]</sup>
- 3) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 紫外分光光度法<sup>[4]</sup>
- 4) pH 值 pH S-9V 型酸度计,玻璃电极法
- 5) 温度 普通水银温度计
- 6) 总固体(TS) 105℃ 烘至恒重
- 7) 挥发性固体(VS) 550℃ 灼烧 1h

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物量与厌氧氨氧化

由图 2 可知,在试验范围内,厌氧氨氧化反应的生物反应速率(单位时间内的基质转化量)对生物浓度的关系可按一级反应表示。回归分析结果,反应速率[*v*, mmol(L·d)<sup>-1</sup>]与混培物浓度(*X*, gVS·L<sup>-1</sup>)之间的关系为:*v* = 1.320*X* - 0.204; 相关系数(*r*<sup>2</sup>)达 0.984。

### 2.2 基质浓度与厌氧氨氧化

许多基质在低浓度时供作基质,但在高浓度时则成为抑制剂,抑制细菌的生长并干扰细菌的代谢<sup>[5]</sup>。

2.2.1 氨浓度与厌氧氨氧化 厌氧氨氧化速率与基质浓度有关。观察 0~70mmol·L<sup>-1</sup> 范围内氨浓度

对反应速率的影响发现,反应速率与氨浓度之间呈

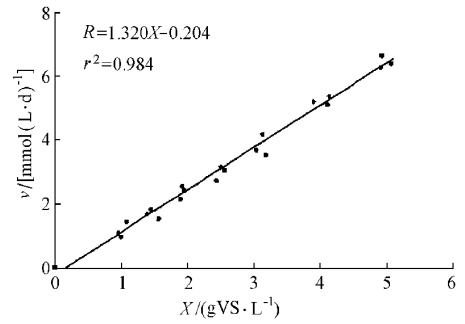


图 2 厌氧氨氧化速率与厌氧氨氧化菌混培物浓度的关系

Fig.2 Relationship between rate of anaerobic ammonia oxidation and biomass concentration

抑制型曲线(图 3)。可采用 Haldane 模型来处理<sup>[6]</sup>。即

$$v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{S} + \frac{S}{K_i}} \quad (1)$$

用 Slide Write Plus Program 6.0,以 Haldane 模型对测定数据作非线性拟合,可得表观最大氨反应速率、半速率常数和氨抑制常数分别为 2.761mmol (gVS·d)<sup>-1</sup>、3.458mmol·L<sup>-1</sup>和 80.226mmol·L<sup>-1</sup>, 相关系数(*r*<sup>2</sup>)为 0.931。厌氧氨氧化菌混培物利用氨的 *K<sub>m</sub>* 值与报道的 *N. europaea* *K<sub>m</sub>* 值<sup>[7]</sup>相当。

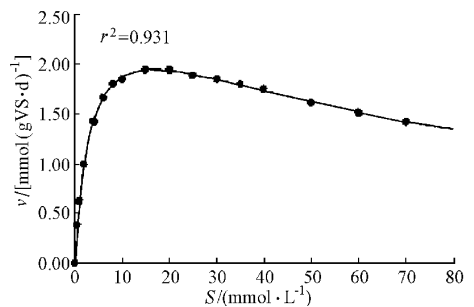


图 3 氨浓度对厌氧氨氧化速率的影响

Fig.3 Effect of ammonia concentration on anaerobic ammonia oxidation rate

对式 1 求导数,并令该方程的一阶导数为零可得:

$$V'_{\max} = \frac{V_{\max}}{1 + 2\sqrt{\frac{K_m}{K_i}}} \quad (2)$$

此时,得到最大反应速率的基质浓度为:

$$S_{\max} = \sqrt{K_m K_i} \quad (3)$$

按式(2)和式(3)求得的实际最大氨反应速率为 1.951mmol (gVS·d)<sup>-1</sup>,取得实际最大反应速率时的氨浓度为 16.656mmol·L<sup>-1</sup>,实际最大反应速率

仅为理论最大反应速率的 70.66%。

从氨抑制常数看,厌氧氨氧化菌混培物对这类废水具有较强的适应性。如果采用连续流反应器处理,并使其在接近稳态的条件下操作,完全能够将基质浓度保持低于产生抑制的水平。根据式 1 分析,即使  $K_i$  值很小,稳态运行产生的低基质浓度也能使  $S/K_i$  项大大小于  $K_m/S$  项,从而使基质的抑制作用得到缓解。此外,出水回流也是缓解基质抑制的有效措施。

从厌氧氨氧化菌混培物的反应活性看,其氧化速率明显低于好氧氨氧化菌。要使厌氧氨氧化反应器高效运行,必须在反应器内滞留高浓度的生物体。

**2.2.2 亚硝酸浓度与厌氧氨氧化** 厌氧氨氧化反应速率也与亚硝酸盐有关。测定发现,亚硝酸盐的厌氧转化同样呈抑制型曲线(图 4)。

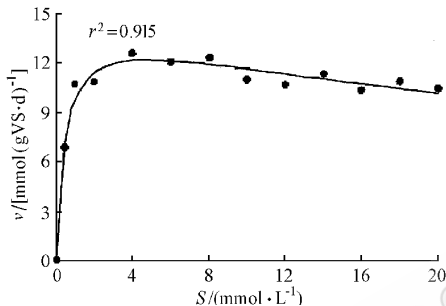


图 4 亚硝酸浓度对亚硝酸转化速率的影响

Fig. 4 Effect of nitrite concentration on anaerobic nitrite conversion rate

与 2.2.1 同理,求得的表现最大亚硝酸反应速率、半速率常数和亚硝酸盐抑制常数分别为  $14.497 \text{ mmol}(\text{gVS} \cdot \text{d})^{-1}$ 、 $0.468 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $51.468 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 相关系数( $r^2$ ) 0.915。实际最大亚硝酸反应速率  $12.175 \text{ mmol}(\text{gVS} \cdot \text{d})^{-1}$ , 此时的亚硝酸盐浓度  $4.908 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 实际最大反应速率为理论最大速率的 83.98%。

厌氧氨氧化菌混培物利用亚硝酸盐的  $K_m$  值接近报道的 *P. denitrificans* 的  $K_m$  值<sup>[8]</sup>。与氨相比,对亚硝酸盐的亲合力明显较大,因此在两者浓度接近时,亚硝酸盐不易成为反应的限制性基质。

亚硝酸盐是很强的生物抑制剂<sup>[9]</sup>。它对厌氧氨氧化反应也有明显的抑制作用。试验结果(图 5)表明,厌氧氨氧化速率随亚硝酸浓度的升高而下降。

对图 5 数据组作非线性拟合,可求得各亚硝酸盐浓度下的最大氨反应速率(表 1)。如果亚硝酸盐对厌氧氨氧化的抑制为非竞争性抑制,则根据酶学原理有:

$$V'_{\max} = \frac{V'_{\max}}{1 + \frac{I}{K_i}} \text{ 或 } \frac{1}{V'_{\max}} = \frac{1}{V'_{\max}} + \frac{I}{V'_{\max} K_i} \quad (4)$$

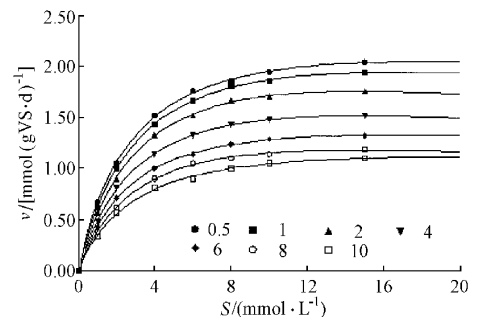


图 5 亚硝酸盐浓度对厌氧氨氧化速率的影响

Fig. 5 Effect of nitrite concentration on anaerobic ammonia oxidation rate

表 1 各亚硝酸盐浓度下的最大氨反应速率

Table 1 Maximal anaerobic ammonia oxidation rate at various nitrite concentration

Concentration/ (mmol·L <sup>-1</sup> )	$V'_{\max}$ / mmol(gVS·d) <sup>-1</sup>	$\frac{1}{V'_{\max}}$
0.5	2.746	0.364
1	2.729	0.366
2	2.641	0.379
4	2.253	0.444
6	1.848	0.541
8	1.733	0.577
10	1.450	0.690

根据式 4 作图 6, 求出亚硝酸盐的抑制常数为  $9.595 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

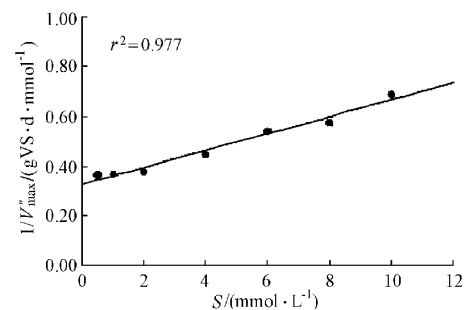


图 6  $\frac{1}{V'_{\max}}$  与亚硝酸盐浓度的关系

Fig. 6 Relationship between  $\frac{1}{V'_{\max}}$  and nitrite concentration

### 2.3 pH 与厌氧氨氧化

pH 对生物反应的影响,主要来自它对生物和基质的影响。

2.3.1 厌氧氨氧化的最适 pH: 试验发现,当 pH 从

6.0 升至 7.5 时,厌氧氨氧化速率逐渐提高;但当 pH 继续升至 9.5 时,厌氧氨氧化速率则不断下降;由此判定,最适 pH 在 7.5 附近(图 7)。

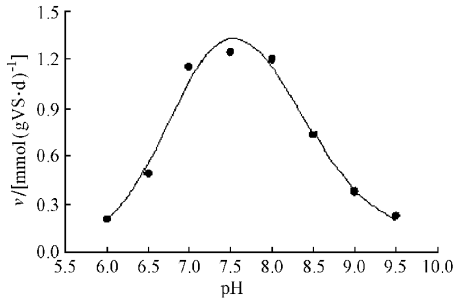


图 7 pH 对厌氧氨氧化速率的影响

Fig.7 Effect of pH value on anaerobic ammonia oxidation rate

鉴于厌氧氨氧化反应对 pH 的依赖性,可以认为该反应的限速酶只有在特定的电离状态才起作用。根据 Antoniou 等人推导<sup>[10]</sup>,有:

$$v = \frac{\delta}{1 + \frac{K_{h1}}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_{h2}}} \quad (5)$$

$$[H^+]_{opt} = \sqrt{K_{h1}K_{h2}} \quad (6)$$

将图 7 中的速率-pH 关系转变为速率-[H<sup>+</sup>]关系,并对式(5)作非线性拟合,可得 δ 1.727mmol(gVS·d)<sup>-1</sup>;K<sub>h1</sub>3.854nmol·L<sup>-1</sup>;K<sub>h2</sub>158.450nmol·L<sup>-1</sup>。按式(6)求得的最佳氢离子浓度为 24.712nmol·L<sup>-1</sup> 相当于最佳 pH7.607。

**2.3.2 pH 对基质厌氧氨氧化的影响** 厌氧氨氧化的两种基质(氨和亚硝酸盐)均受 pH 的影响。试验(pH7.8 和 30℃)测得的厌氧氨氧化半速率常数(3.458mmol·L<sup>-1</sup>)、氨抑制常数(80.226mmol·L<sup>-1</sup>)和取得实际最大反应速率时的氨浓度(16.656mmol·L<sup>-1</sup>)所对应的游离氨浓度为:0.234,5.418 和 1.125mmol·L<sup>-1</sup>。

在 pH7.8 和 30℃ 时,亚硝酸盐转化的半速率常数(0.468mmol·L<sup>-1</sup>)、抑制常数(51.468mmol·L<sup>-1</sup>)、取得实际最大反应速率时的亚硝酸盐浓度(4.908mmol·L<sup>-1</sup>)以及亚硝酸盐对氨转化的抑制常数(9.595mmol·L<sup>-1</sup>)所对应的游离亚硝酸浓度为:0.019,2.049,0.195 和 0.382μmol/L。

**2.4 温度与厌氧氨氧化**

**2.4.1 厌氧氨氧化的最适温度** 温度对厌氧氨氧化有很大的影响。当温度从 15℃ 升至 30℃ 时,反应速率逐渐提高,继续升至 35℃ 时,反应速率反而下降;因此最适温度约在 30℃ 左右(图 8)。该变化趋势与硝化反应相一致<sup>[10]</sup>。但不同于 *Pseudomonas deni-*

*trificans* 的反硝化反应,后者最适温度为 38℃<sup>[8]</sup>。

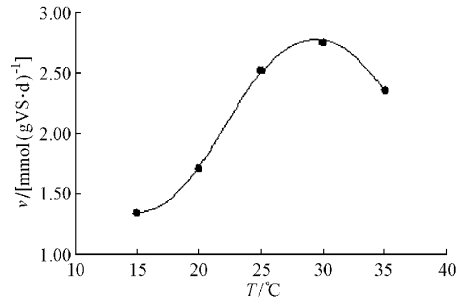


图 8 温度对厌氧氨氧化速率的影响

Fig.8 Effect of temperature on anaerobic ammonia oxidation rate

**2.4.2 厌氧氨氧化的温度系数** 在温度 15~35℃、初始氨浓度 1~15mmol·L<sup>-1</sup>、初始亚硝酸盐浓度 2mmol·L<sup>-1</sup> 的条件下,测得温度对厌氧氨氧化速率的影响见表 2。

表 2 温度对厌氧氨氧化速率的影响

Table 2 Effect of temperature on anaerobic ammonia oxidation rate

Ammonia concentration/(mmol·L <sup>-1</sup> )	Anaerobic ammonia oxidation rate/(mmol(gVS·d) <sup>-1</sup> )				
	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃
1	0.432	0.468	0.631	0.561	0.411
2	0.626	0.710	0.978	0.910	0.687
4	0.786	0.940	1.329	1.309	1.025
6	0.839	1.035	1.486	1.518	1.218
8	0.852	1.075	1.559	1.636	1.335
10	0.847	1.089	1.591	1.704	1.410
15	0.807	1.072	1.588	1.768	1.498

以式(1)对表 2 中的各组数据作非线性拟合,可求得各温度下的动力学参数值(表 3)。再用表 3 数据作 Arrhenius 图,求得各动力学参数的活化能见表 4。

表 3 各温度下的动力学参数值

Table 3 Kinetic coefficients at various temperature

Parameter	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃
V <sub>max</sub> /(mmol(gVS·d) <sup>-1</sup> )	1.345	1.711	2.526	2.756	2.362
K <sub>m</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )	1.801	2.305	2.624	3.455	4.215
K <sub>i</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )	38.018	50.546	55.305	80.228	98.465
Correlation coefficient(r <sup>2</sup> )	0.943	0.957	0.925	0.971	0.975

表 4 各动力学参数的活化能

Table 4 Activation energy of kinetic coefficients

Activation energy (kJ·mol <sup>-1</sup> )	V <sub>max</sub>	K <sub>m</sub>	K <sub>i</sub>
	37.316	30.239	33.695
Correlation coefficient(r <sup>2</sup> )	0.967	0.975	0.939

同理,用表 5 数据作 Arrhenius 图,求得亚硝酸盐对厌氧氨氧化的抑制常数( $K_{in}$ )的活化能为  $30.473\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

表 5 各温度下的亚硝酸盐抑制常数

Table 5 Inhibitory coefficient of nitrite at various temperature

$T/(\text{°C})$	15	20	25	30	35
$K_{in}(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	5.401	6.173	7.936	10.012	11.995
Correlation coefficient( $r^2$ )	0.955	0.947	0.954	0.935	0.962

## 2.5 厌氧氨氧化菌的生长

由于种种原因,对厌氧氨氧化的研究进展十分缓慢<sup>[8]</sup>。虽有多篇文献报道在氨氧化菌 *Nitrosomonas* 的纯培养中存在厌氧氨氧化,但以氨为唯一能源培养 *Nitrosomonas* 时,并没有测到细胞数量的增加<sup>[8,11,12]</sup>。

在厌氧氨氧化流化床反应器中,Mulder 等人作了细胞产率系数的测定,报道的  $Y$  值为  $10\text{mg VSS}\cdot[\text{L}(\text{废水})]^{-1}$  或  $0.04\text{g COD}(\text{生物量})[\text{g COD}(\text{去除})]^{-1}$ 。由于运试中采用废水,他们未能提供以基质为基础的细胞产率。

本试验曾设想通过分批培养来测定混培物的生长速率,但未能如愿。此后,又尝试了恒化器连续培

养(HRT 大于 10d),也没有达到预期的目的。只得直接对厌氧氨氧化流化床反应器进行生物量平衡。通过每天监测出水中的污泥浓度以及运行 30 天后反应器内的污泥变化,获得了表 6 所列的结果。

一般认为,细菌的比生长速率( $\mu$ )与比基质利用速率( $U$ )之间存在式(7)所表示的关系。而比基质利用速率又可通过式(8)计算。通过  $\mu$  对  $U$  作图,可得细胞产率系数和细胞衰减常数。

$$\mu = YU - b \quad (7)$$

$$U = \frac{S_0 - S}{\theta Y} \quad (8)$$

根据(7),用表 6 中的数据作  $\mu$ - $U$  图,发现厌氧氨氧化菌混培物比生长速率与比基质利用速率之间成直线关系(图 9)。通过回归分析,求得生物产率系数( $Y$ ) $1.573\text{mgVS}(\text{mmol NH}_4^+)^{-1}$ ;细胞衰减常数( $b$ ) $0.052\text{mgVS}(\text{gVS}\cdot\text{d})^{-1}$ 。

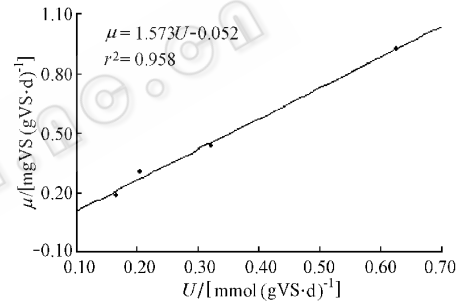


图 9 厌氧氨氧化菌混培物比生长速率与比基质利用速率的关系

Fig. 9 Relationship of specific growth rate and specific substrate utilization

从厌氧氨氧化菌混培物的生长特性来看,要进行该生物反应的工程开发,需解决接种物的增殖问题。如果能够获得足量接种物,又能使其适度增殖,将厌氧氨氧化应用于产生是完全可能的。

表 6 厌氧氨氧化菌混培物生长动力学参数的测定

Table 6 Data for growth kinetics of anaerobic ammonia oxidation biomass

Operation time/d	30	30	30	30
HRT/d	2	1.5	1	0.5
Average influent $\text{NH}_4^+ - \text{N}(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	5	5	5	5
Average effluent $\text{NH}_4^+ - \text{N}(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	0.261	0.321	0.377	0.465
$U[\text{mmol}(\text{gVS}\cdot\text{d})^{-1}]$	0.163	0.215	0.318	0.625
Total biomass within reactor/(mgVS)*	29063	29118	29172	29199
Average effluent biomass/(mgVS)	4.578	7.709	10.543	26.392
$\mu[\text{mgVS}(\text{gVS}\cdot\text{d})^{-1}]$	0.184	0.328	0.424	0.935

\* 开始测试时反应器内的总生物量为 29040mg

## 符号说明

$v$	基质反应速率	$V'_{\max}$	存在基质抑制时可取得的最大反应速率
$V_{\max}$	最大基质反应速率	$S_{\max}$	存在基质抑制时取得最大反应速率的基质浓度
$K_m$	半速率常数	$V''_{\max}$	存在抑制剂时的基质反应速率
$K_i$	基质抑制常数	$I$	抑制剂浓度
$S$	基质浓度	$K_{in}$	抑制剂抑制常数
$\mu$	比生长速率	$U$	比基质利用速率
$Y$	细胞产率系数	$b$	细胞衰减常数

$S_0$	进水氨浓度	$S_e$	出水基质浓度
$X$	VS 浓度	$\theta$	水力停留时间
$[H^+]$	氢离子浓度	$\delta$	常数
$K_{b1}$	常数	$K_{b2}$	常数
$a$	氨	$n$	亚硝酸
$[H^+]_{opt}$	取得最大反应速率时的氢离子浓度	$r$	回归相关系数
$T$	温度		

## REFERENCES (参考文献)

- [ 1 ] Mulder A, Van de Graaf A A, Robertson L A *et al.* Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol Ecol*, 1995, **16**: 177~184
- [ 2 ] Jetten M S M, Strous M, Van de Pas-Schoonen K T *et al.* The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology*, 1999, **22**: 421~437
- [ 3 ] Jetten M S M, Horn S J, Van Loosdrecht M C M. Towards a more sustainable wastewater treatment system. *Wat Sci Tech*, 1997, **35**(9): 171~180
- [ 4 ] China Bureau of Environmental Protection (国家环保局). Methods for monitor and analysis of water and wastewater (3rd edition). Beijing: China Press of Environmental Science (中国环境科学出版社), 1997
- [ 5 ] Edwards V H. The influence of high substrate concentration on microbial kinetics. *Biotechnol Bioeng*, 1970, **12**: 679~712
- [ 6 ] Gee C S, Suidan M T, Pfeffer J T *et al.* Modeling of nitrification under substrate-inhibiting conditions. *J Environ Eng*, 1990, **116**(1): 18~31
- [ 7 ] Frijlink M J, Abee T, Laabroek H J *et al.* The bioenergetics of ammonia and hydroxylamine oxidation in *Nitrosomonas europaea* at acid and alkaline pH. *Arch Microbiol*, 1992, **157**: 194~199
- [ 8 ] Wang J H, Baltzis B C, Lewandowski G A. Fundamental denitrification kinetic study with *Pseudomonas denitrificans*. *Biotechnol Bioeng*, 1995, **47**: 26~41
- [ 9 ] Almeida J S, Julio S M, Reis M A M *et al.* Nitrite inhibition of denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. *Biotechnol Bioeng*, 1995, **46**: 194~201
- [ 10 ] Antoniou P, Hamilton J, Koopman B *et al.* Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Wat Res*, 1990, **24**(1): 97~101
- [ 11 ] Bock E, Schmidt I, Stuvén R *et al.* Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor. *Arch Microbiol*, 1995, **163**: 16~20
- [ 12 ] Schmidt I, Bock E. Anaerobic ammonia oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas eutropha*. *Arch Microbiol*, 1997, **167**: 106~111

## Kinetics of Anaerobic Ammonia Oxidation

ZHENG Ping\* HU Bao-Lan

(Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract** The kinetic characteristics of anaerobic ammonia oxidation was studied. The cell yield was  $1.573 \text{ mgVS} (\text{mmolNH}_4^+)^{-1}$  and the cell decay coefficient was  $0.052 \text{ mgVS} (\text{gVS} \cdot \text{d})^{-1}$ . The maximal rate of anaerobic ammonia oxidation and nitrite conversion rate by the mixed culture were  $1.320 \sim 2.761 \text{ mmol} (\text{gVS} \cdot \text{d})^{-1}$  and  $14.497 \text{ mmol} (\text{gVS} \cdot \text{d})^{-1}$ , respectively.  $K_m$  for ammonia and for nitrite were  $1.801 \sim 4.215$  and  $0.468 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ .  $K_i$  for ammonia was  $38.018 \sim 98.465 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the optimal ammonia concentration was  $16.656 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ .  $K_i$  for nitrite was  $5.401 \sim 11.995 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The optimal pH was around 7.5 and the theoretical value was 7.605. The optimal temperature was about  $30^\circ\text{C}$ . The activation energy for  $V_{max}$ ,  $K_m$ ,  $K_{ia}$  and  $K_{in}$  was 37.316, 30.239, 33.695 and  $30.473 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

**Key words** anaerobic ammonia oxidation, kinetics, nitrification, denitrification

Received July 26 2000

This work was supported by grant from National Natural Science Foundation (30070017).

\* Corresponding author. Tel 86-571-6971709; Fax 86-571-6971411; E-mail: zhp@emlab.zju.edu.cn

中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>